



PATENTSCHRIFT 1 005 759

D2

DBP 1 005 759

KL. 42 I 3/54

INTERNAT. KL. G 01 n

21. JULI 1952

ANMELDETAG:

BEKANNTMACHUNG
DER ANMELDUNG
UND AUSGABE DER

AUSLEGESCHRIFT: 4. APRIL 1957

AUSGABE DER
PATENTSCHRIFT: 12. SEPTEMBER 1957STIMMT ÜBEREIN MIT AUSLEGESCHRIFT
1 005 759 (N 5823 IX/421)

1

Die vorliegende Erfindung betrifft eine zum Gebrauch bei der Bestimmung von Blutgruppen verwendbare Karte, auf deren Oberfläche die den Blutgruppenbestimmungen dienenden Reaktionen ausgeführt werden können.

Die Blutgruppen, die für Patienten und Schwangere eine praktische Rolle spielen, sind die A-, B-, AB-, 10 O- und Rh-Gruppen. Bei der Bestimmung der A-, B-, AB- und O-Gruppen wird in der Regel so vorgegangen, daß das betreffende Testserum, und zwar entweder Anti-A oder Anti-B, mit einer Salzwasser- 15 aufschlemung von Blutkörperchen des Patienten gemischt werden. Der Mischvorgang kann auf einer Glasperle oder in einem Zwergreagenglas erfolgen, und nach 10 Minuten Wippen der Glasperle oder 20 nach 2 Stunden Stehenlassen der Zwergreagengläser werden die Reaktionen abgelesen.

An der Art und Weise, in welcher diese Untersuchungen bisher ausgeführt wurden, haftet eine Reihe von Mängeln. So können Fehler dadurch entstehen, daß das Anti-A-Testserum und das Anti-B-Testserum umgetauscht worden sind oder daß das 25 zu prüfende Blut mit Blut eines anderen Patienten vertauscht worden ist. Ferner klumpen sich die Blutkörperchen gewisser Patienten in jedem Serum, unabhängig vom Inhalt von spezifischen Antistoffen in diesen Sera, und sie werden daher bei diesem Verfahren als Typ AB — öfters falsch; da der AB-Typ 30 recht selten ist — bestimmt werden. Diese Eigenschaft der Blutkörperchen, die sogenannte Panagglutinabilität, ist jedoch sehr selten. Schließlich kann eine Gruppenbestimmung bei Neugeborenen mit Blut, das dem Nabelstrang entnommen wurde, aus anderen Gründen eine ähnliche falsche AB-Bestimmung ergeben.

Ein anderes Verfahren zur Bestimmung der Gruppen A, B, AB und O ist von G. F. Wagner in »Der Deutsche Militärarzt«, März 1941, beschrieben worden. Es besteht darin, daß zu der Bestimmung eine Karte angewandt wird, auf welcher ein Tropfen von jedem der drei Testsera, welche Anti-A, Anti-B bzw. sowohl Anti-A- als Anti-B-Antistoffe enthalten, eingetrocknet ist. Die Tropfen befinden sich in den drei bezeichneten Feldern. Bei der Anwendung verteilt man zunächst ein Tröpfchen Salzlösung und dann ein Tröpfchen Blut des Patienten über jedem der drei Felder und vermischt sie mit dem Testserum des Feldes, das in der Salzlösung aufgeweicht wird. Danach wird die Karte während einiger Minuten nach allen Seiten hin und her gewippt, und das Ergebnis der Prüfung wird abgelesen. Agglutinieren des Blutes in den Feldern, welche Anti-A und Anti-B enthalten, zeigt das Vorhandensein vom A- bzw. B-Faktor, während fehlendes Agglutinieren in sämt-

Zur Bestimmung von Blutgruppen
verwendbare Karte

5

Patentiert für:

Nordisk Insulinlaboratorium, Gentofte
(Dänemark)Beanspruchte Priorität:
Dänemark vom 28. Juli 1951Knud Eldon, Hellerup (Dänemark),
ist als Erfinder genannt worden

2

lichen Feldern zeigt, daß das Blut zur Gruppe Null gehört.

Bei diesem Verfahren ist ein Verwechseln von Anti-A- und Anti-B-Serum praktisch ausgeschlossen, 25 und die Gefahr einer Verwechslung des Blutes verschiedener Patienten ist verringert. Dagegen haftet auch an diesem Verfahren der Mangel, daß die Panagglutination als Gruppe AB ausgelegt wird. Der größte Nachteil des Verfahrens ist aber, daß es zu nicht spezifischen Reaktionen (Pseudoagglutination) Anlaß gibt, die den positiven Reaktionen sehr ähnlich sind, und welche das Resultat der sogenannten Geldrollen- (Rouleaux-) Bildung ist. Wagner hat zur Vermeidung dieses Nachteiles vorgeschlagen, eine 30 kolloide Lecithin-Salz-Lösung zuzusetzen, aber ein derartiger Zusatz verhindert oft auch die spezifische Agglutination.

Während die Bestimmung der A-, B-, AB- und O-Gruppen in der Regel bei Zimmertemperatur ausgeführt wird, muß man bei den bisher normalerweise 40 angewandten Verfahren bei der Bestimmung der Rh-Gruppe eine Temperatur nahe 37° verwenden. In größeren Laboratorien wird zu dieser Bestimmung eine Salzwassersuspension von den roten Blutkörperchen des Patienten angewandt, indem dieselbe in Zwergreagengläsern mit Anti-Rh-Serum gemischt wird, wonach man das Glas während 1,5 Stunden stehenläßt (bei etwa 37°), und die Reaktion wird abgelesen. Hierfür sind regelmäßige Sendungen von 45 Anti-Rh-Sera erforderlich, die in einem Salzwassermedium zu reagieren vermögen. Da derartige Sendungen für kleinere Laboratorien nicht leicht zu beschaffen sind, werden in denselben in der Regel Rh-Sera von dem unkompletten Typ angewandt, der

nur mit Blutkörperchen reagiert, die in einer Flüssigkeit suspendiert sind, welche Conglutinin oder Conglutininersatz enthält. Die Probe wird gewöhnlich auf folgende Weise ausgeführt: Ein unvollständiges Anti-Rh-Serum wird mit roten Blutkörperchen des Patienten, die in ihrem eigenen Serum suspendiert sind, gemischt. Vielfach wird die Mischung auf einem Objektglas gebildet, das danach auf einem Wärmekasten angebracht wird, der bei etwa 37° gehalten wird; das Ablesen kann nach Verlauf von 3 Minuten erfolgen. Es ist notwendig, koaguliertes Blut für die Probe zu benutzen, da nicht koaguliertes Blut zu falschen positiven Resultaten Anlaß geben kann, wenn die Sedimentierungskonstante des Blutes schwach erhöht ist. Auch bei Vornahme dieser Sicherheitsmaßregel können aber falsch-positive Resultate bei Blut vorkommen, dessen Sedimentierungskonstante die normale erheblich übersteigt, z. B. in Verbindung mit gewissen Fieberzuständen, gewissen Krebskrankheitsarten, gewissen Blutkrankheiten oder weil die Patientin in dem letzten Teil der Schwangerschaft ist. Die Resultate werden ebenfalls falsch-positiv werden bei panagglutinierendem Blut — und Blut von Neugeborenen können, wenn es von Rh-Antistoffen der Mutter stark beeinflußt wird, falsch-negative Resultate ergeben.

Nach der Erfindung werden diese Nachteile dadurch vermieden, daß die von den Kartenoberflächen eingetrockneten Testsera mit so viel Conglutinin oder Conglutininersatz verdünnt sind, daß das Verhältnis zwischen Serum einerseits und Conglutinin und Conglutininersatz andererseits oder, falls die Serum Mengen unwesentlich sind, zwischen den Komponenten eines Gemisches von Conglutinin und Conglutininersatz zwischen 1:99 und 30:70, vorzugsweise bei etwa 10:90 liegt.

Unter Conglutinin und Conglutininersatz sind hier und in dem folgenden diejenigen Stoffe zu verstehen, die innerhalb der von A. S. Wiener in der Rh-Glossary (The Laboratory Digest, St. Louis, Mo., Nov. 1950) gegebenen Definition von diesen Begriffen fallen, z. B. Albuminlösungen, gewisse Gummilösungen, wie Gummiarabikum oder Lösungen von gewissen hochmolekularen Alkoholen oder deren Derivaten, z. B. Polyvinylpyrrolidin, oder hochmolekularen Zuckerstoffen. Blutserum oder Blutplasma kommen hier nicht in Betracht, da es eben darauf ankommt, ein Verdünnungsmittel für Blutsera zu verwenden. Nach den der vorliegenden Erfindung zugrunde liegenden Untersuchungen, die im folgenden näher erläutert werden sollen, ist es besonders der Umstand, daß bei dem früher von Wagner vorgeschlagenen Kartenverfahren unverdünntes Serum zur Anwendung kam, welcher der Grund der bisherigen Unwendbarkeit des Kartenverfahrens war.

Wenn eingangs bereits darauf hingewiesen wurde, daß es bekannt ist, in kleineren Laboratorien Rh-Sera vom unkompletten Typ zu benutzen, der nur mit Blutkörperchen reagiert, die in einer Flüssigkeit suspendiert sind, welche Conglutinin oder Conglutininersatz enthält, so hat dies mit der Erfindung nichts zu tun. Bei den bekannten Verfahren werden immer nur inkomplette Sera komplettiert, während es sich bei der Erfindung um alle Agglutinationen handelt unabhängig davon, ob Sera mit kompletten oder inkompletten Eigenschaften verwendet werden. Außerdem handelt es sich um die Erreichung anderer Ziele, und zwar einerseits, um die Reaktion zu beschleunigen, und andererseits darum, nicht spezifische Reaktionen zu vermeiden.

Daß die gegenübergestellten Verfahren miteinander nichts zu tun haben, geht auch daraus hervor, daß man dem bekannten Stand der Technik gegenüber keinen Anlaß hat, den anti-A-spezifischen oder anti-B-spezifischen Sera oder den anti-Rh-spezifischen Sera, die in einem Salzwassermedium zu reagieren vermögen (komplette Anti-Rh-Sera), Conglutinin oder Conglutininersatz hinzuzusetzen, weil man ja nicht weiß, was für eine Wirkung ein solcher Zusatz haben würde, da dies weder aus den in Gläsern ausgeführten Agglutinationsreaktionen noch aus den Erfahrungen, die mit den Wagnerschen Karten gemacht wurden, bekannt ist.

Ein weiteres Merkmal der Erfindung besteht darin, daß die Reaktionsstärke zwar für die Herstellung der zur Verwendung kommenden Serum-Conglutinin-Mischungen oder Serum-Conglutininersatz-Mischungen dienenden Sera durch Mischung stärkerer Testsera mit indifferenten oder schwächeren gruppengleichen Sera standardisiert ist. Auf diese Weise ist man von Verschiedenheit in der Spezifitätsstärke verschiedener Sera unabhängig. Es ist zwar an sich bekannt, spezifische Sera mit indifferenten Sera oder (was dasselbe ist) mit Sera von geringerer Stärke zu verdünnen, um eine Ersparnis zu erzielen und zum Strecken der stärkeren Sera, aber es ist nicht bekannt, daß man hierdurch Vorteile in einem Fall wie dem vorliegenden erreichen kann, wo die spezifischen Testsera mit anderen Stoffen verdünnt werden sollen. Es hat sich aber erwiesen, daß es zweckmäßig ist, auch in solchen Fällen, wo ein stark verdünnbares Serum vorliegt und wo dasselbe daher in entsprechend geringerer Menge gebraucht werden könnte, ein gewisses Mischungsverhältnis zwischen Serum und Conglutinin-substitut oder Conglutinin aufrechtzuerhalten.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung enthält eins der Felder der Karte zusammen mit Conglutinin oder Conglutininersatz indifferentes Serum ohne Zusatz von spezifischem Serum. Dieses Feld dient als Kontrollfeld zur Enthüllung von falsch-positiven Reaktionen im Falle von panagglutinierendem Blut.

Die erfindungsgemäße Karte kann zweckmäßig in allen Feldern eine eingetrocknete Mischung von Serum (hierunter Testserum und Mischungen von Testserum mit indifferentem Serum) und Conglutinin oder Conglutininersatz in ein und demselben Mengenverhältnis enthalten. Hierdurch kann man erreichen, daß die Reaktion in allen Feldern mit gleicher Sicherheit nach gleicher Zeit abgelesen werden kann und daß eine gegebene Stärke oder ein schnelles Eintreten der Reaktion immer angibt, daß der betreffende Faktor mit einer entsprechenden Stärke vorhanden ist.

Es ist ferner besonders zweckmäßig, daß die Fläche der Karte, die aus Papier, Pappe, Karton, Kunstharz, Metall oder anderem Material sein kann, die in einer verwendbaren Stärke eine angemessene Steifheit hat, ganz oder teilweise mit einem Häutchen aus regenerierter Zellulose, vorwiegend in Form eines Klebestreifens mit einem wasserbeständigen Klebstoff, belegt ist. Hierdurch wird man von unspezifischen Reaktionen frei, selbst nach Eintrocknen der Reaktionsmischung auf der Karte.

Eine Ausführungsform der Erfindung wird unter Hinweis auf die Zeichnung beschrieben, wo

Fig. 1, 2 und 3 Kurven der Agglutination und der Pseudoagglutination bei drei verschiedenen Mischungen in Abhängigkeit von dem Mischverhältnis und

Fig. 4 eine Karte für Blutgruppenbestimmungen gemäß der Erfindung zeigen.

Die physisch-chemischen und biologischen Verhältnisse, die der Erfindung zugrunde liegen, erhellen aus den Kurven der Fig. 1 bis 3, wo die Abszissen das prozentuale Mischverhältnis der Komponenten k' und k'' und die Ordinaten die Intensität der Reaktion in abgeschätzter Beurteilung auf die bei Blutgruppenbestimmungen übliche Weise zeigen. Die Kurven I_a , II_a und III_a zeigen die Intensität der spezifischen Reaktionen, wie die Kurven I_b , II_b und III_b , die der nicht spezifischen Reaktionen zeigen. Alle Intensitäten sind nach dem Aussehen der Reaktionsmischungen auf einer erfundungsgemäßen Karte 3 Minuten nach Zusatz von Blut beurteilt. Die Kurven beziehen sich auf folgende Mischungen:

I_a und I_b sind Mischungen, worin k' eine 6%ige Lösung von Dextran und k'' ein indifferentes Blutserum ist, wobei die Mischung ein starkes Anti-Rh-Serum im Verhältnis 1:1000 enthält.

II_a und II_b sind Mischungen, worin k' eine 20%ige Lösung von Serum-Albumin und k'' ein indifferentes Blutserum ist, welche Mischung Anti-Rh-Serum, wie oben angeführt, enthält.

III_a und III_b sind Mischungen, worin k' eine 6%ige Lösung von Dextran und k'' eine 20%ige Lösung von Serum-Albumin ist, welche Mischung Anti-Rh-Serum, wie oben angeführt, enthält.

Die Intensität der nicht spezifischen Reaktionen (Kurve: I_b , II_b , III_b) ist nach den vorgenannten Mischungen nach Zusatz von Blut beurteilt, das keine Rh-Reaktion zeigt, während die Intensität der spezifischen Reaktionen (Kurve: I_a , II_a und III_a) nach Zusatz von Blut beurteilt ist, welches Rh-positive Blutkörperchen enthält.

Die Kurven zeigen, daß die spezifischen Reaktionen in der Mehrheit der Mischverhältnisse stärker sind in den Fällen I und III, worin Dextran angewandt wird, als im Falle II, wo dieses Conglutinin-substitut nicht benutzt wird. Ferner geht aus den Kurven I_b und II_b hervor, daß in den Fällen, wo 100% der Komponente k'' angewandt wurden, d. h. wenn das einzige Verdünnungsmittel für das spezifische Serum ein indifferentes Serum ist, eine starke nicht spezifische Reaktion vorliegen wird. Wenn aber etwas mehr als die Hälfte des indifferenten Serums durch Dextranlösung ersetzt wird, werden die nicht spezifischen Reaktionen weniger ausgeprägt, und wenn das Verhältnis zwischen Dextran und Serum 4:1 übersteigt, werden gar keine nicht spezifische Reaktionen vorkommen. Für die Beurteilung der Einwirkung des Serums auf das Vorkommen von nicht spezifischen Reaktionen ist es natürlich belanglos, ob das Serum spezifisch oder nicht spezifisch ist.

Die Kurve II_b zeigt, daß die nicht spezifischen Reaktionen sich auch dadurch vermeiden lassen, daß Serum durch Albumin ersetzt wird. In diesem Falle ist das Konzentrationsgebiet, innerhalb dessen die nicht spezifischen Reaktionen vermieden werden, größer als bei Dextran, aber die Intensität der nicht spezifischen Reaktionen in dem Gebiet, wo nicht spezifische Reaktionen vermieden werden, ist geringer. Bei Mischungen von Albumin und Dextran ist es auch möglich, nicht spezifische Reaktionen durch Anwendung eines Verdünnungsmittels zu vermeiden, in welchen eine große Menge Albumin vorkommt.

Gemäß den Kurven liegt das zweckmäßigste Verhältnis zwischen Serum (indifferentem oder spezifischem oder Mischungen derselben) und Conglutinin oder Conglutininersatz bei einem Serumanteil von 10 bis 20%, wenn auch in einigen Fällen, z. B. bei Albumin, ein höheres Mischverhältnis angewandt

werden kann und in anderen Fällen: (nämlich bei optimaler Salzkonzentration) ein niedrigeres, z. B. Serumanteil 1%. Im allgemeinen hat sich ein Mischverhältnis von 1:9 am zweckmäßigsten erwiesen.

Die Kurven zeigen auch, daß die sogenannten Dextranlösungen, welche als Bluttransfusionsmittel angewandt werden und welche in der Tat aus teilweise abgebautem Dextran in wässriger Lösung bestehen (meistens in einer Konzentration von 6%), besonders zweckmäßig sind, weil diese Lösungen die Agglutinationsgeschwindigkeit sehr fördern.

Die angewandten Sera sind dieselben, die im allgemeinen in Krankenhäusern und Laboratorien, wo Blutgruppenbestimmungen ausgeführt werden, angewandt werden. Sie sind im allgemeinen humane und röhren von Personen her, deren Sera die betreffenden Antistoffe spontan enthalten oder welche zu diesem Zweck immunisiert sind. Man läßt das entnommene Blut koagulieren, das Serum wird von dem Koagulat entfernt und wird nötigenfalls zentrifugiert. Das so gewonnene Serum wird dann den gewöhnlichen Behandlungen unterworfen, um dasselbe als Reagens bei Blutgruppenbestimmungen geeignet zu machen. Die einzige Behandlung, die meistens notwendig ist, ist eine Wärmebehandlung bei etwa 56° während etwa 20 Minuten zur Zerstörung des Komplements, das sonst zur Hämolyse statt Agglutination Anlaß geben könnte. Bei Anti-Rh-Sera kann es auch notwendig sein, unerwünschte Anti-A- und Anti-B-Antistoffe durch Absorption derselben an geeigneten Stoffen zu entfernen, wie z. B. an entsprechenden Blutkörperchen.

Sera von verschiedenen Blutgebern sind in der Regel von wechselnder Stärke in bezug auf den betreffenden Antistoff. Bei der Ausführung der Erfindung müssen Sera angewandt werden, deren Stärke diejenige übersteigt, die notwendig ist, um eine unzweideutige Agglutination mit den betreffenden Blutkörperchen zu zeigen, da das Serum, wie erwähnt, mit Conglutinin oder Conglutininersatz verdünnt werden soll. Es ist aber sehr wohl möglich, Sera zu erzielen, welche Verdünnung in noch höherem Grad als die erfundungsgemäße Verdünnung mit Conglutinin oder Conglutininersatz ertragen können, und solche Sera lassen sich mit Vorteil standardisieren und ausbalancieren. Zu diesem Zweck werden sie mit indifferentem Serum oder mit Sera vermischt, die die gleiche spezifische Reaktion besitzen, die aber schwächer als erwünscht sind. Hierdurch wird es möglich, vorliegende Sera auf wirtschaftlichere Weise verwerten zu können und die Stärke der positiven Reaktionen auf ein und derselben Karte ausgleichen zu können, so daß sie annähernd dasselbe Aussehen erhalten und nach der gleichen Reaktionszeit erscheinen.

Zu den so erzielten Sera lassen sich — außer Conglutinin und Conglutininersatz — andere Stoffe zusetzen; so soll die Reaktionsmischung dem Blut gegenüber isotonisch oder hypertonisch sein, d. h. eine Salzkonzentration von etwa 0,9% oder mehr erweisen. Es hat sich erwiesen, daß die zweckmäßigste Salzkonzentration etwa 2% ist. Wenn die Karte derart verwendet wird, daß gewöhnliches oder destilliertes Wasser bei der Wiederlösung verwendet wird, ist es zweckmäßig, daß die zur Erreichung der genannten Hypertonie notwendige Salzmenge in der zum Eintrocknen bestimmten Mischung von Serum und Conglutinin oder Conglutininersatz einverlebt wird. Diese Vermehrung der Salzmenge fördert die Agglutination mit spezifischen Sera wesentlich, vermehrt aber nicht die Tendenz zur Erscheinung nicht

spezifischer Reaktionen. Konzentrationen in der Höhe von 3% sollen aber vermieden werden, weil die Agglutination bei dieser und höheren Salzkonzentrationen erheblich gehemmt wird. Ferner können koagulationsverhindernde Stoffe, z. B. Natriumcitrat oder Natriumoxalat oder Heparin, vorzugsweise von anderem Ursprung als Rindleber, zugesetzt werden. Diese Zusätze können in Mengen, welche etwa 5 bis 40 mm³ pro Feld auf der Karte entsprechen, angewandt werden. Verwendet man Heparin, kann man z. B. 1 Teil Heparinlösung (5%ige) je 3000 Teile der Mischung von Serum und Conglutinin oder Conglutininersatz verwenden.

Derjenige Teil der Kartenfläche, auf welcher sich die Reaktionsfelder befinden, muß glatt, chemisch indifferent und imstande sein, Serum und Wasser festzuhalten und damit gleichmäßig befeuchtet zu werden.

Sie müssen so glatt sein, daß etwaige Unebenheiten oder Körnerchen nicht die Beurteilung, ob die Reaktionsmischung agglutiniert ist oder nicht, erschweren. So darf die Größe der Körner am liebsten nicht $\frac{1}{6}$ mm übersteigen.

Betreffend die chemische Indifferenz darf die Oberfläche keine Stoffe abgeben, welche mit den Bestandteilen der Serumlösungen reagieren, z. B. Säuren, wie Essigsäure, Aldehyden, Alkalien oder Salzen.

Die Oberfläche darf auch nicht besonders porös oder wasserdurchdringlich sein, so daß die Flüssigkeit in die Poren der Karte eindringt. Bei wasserdurchdringlichen Oberflächenmaterialien, wie z. B. regenerierter Zellulose oder Gelatine, kann dies jedoch dadurch verhindert werden, daß hinter dem Oberflächenhäutchen sich eine wasserdichte Schicht, z. B. ein wasserbeständiges Klebemittel, befindet, mit dem das Häutchen an der Unterlage festgeklebt ist, oder eine Schicht von undurchdringlichem Lack od. dgl. ist. Das Oberflächenmaterial muß ferner einen Kontaktwinkel mit Wasser oder Serumlösung bilden, der nicht so klein ist, daß die Flüssigkeit besonders geneigt ist, von der Oberfläche abzulaufen, wenn dieselbe gewippt wird, z. B. einen Winkel von 45°.

Außer einer Oberflächenschicht, welche aus regenerierter Zellulose — wie oben erwähnt — besteht, kann man auch eine Fläche aus hartem Papier verwenden, das in der Masse mit vegetabilischem Leim und an der Oberfläche mit animalischem Leim verleimt ist, wie von Wagner (a. a. O.) empfohlen. Ferner haben chemisch indifferente Metalle, wie Gold, und einige Lacke und Kunsthärze, wie Zelluloseacetat, Polyvinylchlorid und Polymethylakrylate, sich brauchbar erwiesen. Bei diesen Metallen, Lacken und Kunsthärtzen muß die Reaktion jedoch beurteilt werden, ehe die Reaktionsmischung trocknet, weil beim Eintrocknen Pseudoagglutination eintreten kann.

In Fig. 4 bezeichnet 1 eine Karte aus z. B. Karton, auf welcher durch Bedrucken vier Felder 5 bis 8 eingerafft sind. An diesen Feldern sind in Reihenfolge die Bezeichnungen »Anti-A«, »Anti-B«, »Anti-D« (Rh-Antistoff) und »Kontrolle« aufgedruckt..

Unter den Feldern können einige allgemeine Weisungen stehen und Rubriken für Namen und Adresse des Patienten, Datum der Probe und Unterschrift des Prüfers u. a. eingerahmt sein.

Über denjenigen Teil der Karte, den die vier Felder beanspruchen, ist ein Streifen regenerierter Zellulose geklebt, durch welche die Einrahmung und Bezeichnungen der Felder sichtbar sind. Das Zellulosehäutchen ist in der Zeichnung mit einer sehr offenen Schraffierung 4 bezeichnet. Innerhalb der

Umrahmung des Feldes 5 ist ein auf dem Zellulosehäutchen angebrachter Tropfen 2 eingetrocknet, bestehend aus Anti-A-Serum, das mit indifferentem Serum in solcher Menge verdünnt ist, die von der 5 Stärke des Anti-A-Serums abhängt und welche so angepaßt ist, daß die Mischung ertragen kann, bis zu ihrem 10fachen Volumen verdünnt zu werden, ohne daß die Reaktion ausbleibt. Ferner befindet sich in dem Tropfen eine Menge einer als Plasmaersatzmittel 10 geeigneten Lösung von partiell abgebautem Dextran, entsprechend der 9fachen Menge des totalen Volumens von Testserum und indifferentem Serum. Ferner enthält der Tropfen auch eine Antikoagulanz in einer Menge, die in bezug auf das zugesetzte Blut koagulationsverhindernd ist und welche Null sein kann.

Das Feld 6 enthält einen eingetrockneten Tropfen einer ähnlichen Mischung, worin aber das angewandte Testserum Anti-B-Serum ist; das Feld 7 enthält einen eingetrockneten Tropfen einer ähnlichen Mischung, 20 worin das angewandte Testserum ein Anti-Rh-Serum ist, das inkomplett sein kann, so daß es nur in der Gegenwart von Conglutinin oder Conglutininersatz wirkt. Schließlich enthält das Feld 8 einen eingetrockneten Tropfen einer Mischung eines indifferenten Serums mit der 9fachen Menge der genannten Lösung eines partiellen Abbauproduktes von Dextran.

Die Karte wird so angewandt, daß man mit Pipette zunächst jedem Feld eine näher angegebene Menge von nicht destilliertem Wasser zusetzt, welches bei 30 Feldern von z. B. 3 cm² zweckmäßig etwa 50 mm³ sein kann. Alsdann wird das Wasser jedes Feldes über das ganze Feld mit einem Glasstäbchen verteilt, indem man das Bestreichen mit demselben so lange fortsetzt, bis alles Testserum gelöst ist. Jedes Feld 35 setzt man nunmehr eine näher angegebene Ohrblutmenge zu, in dem genannten Fall z. B. 10 mm³. Das Blut wird mittels eines Glasstäbchens mit der auf jedem Feld befindlichen Flüssigkeit gut vermischt, und wenn die Felder gleichmäßig rot erscheinen, 40 wippt man die Karte langsam durch etwa 3 Minuten nach allen Seiten. Nach dieser Zeit stellt man fest, ob Agglutination in den einzelnen Feldern eingetreten ist oder nicht und füllt die Kartenrubriken demgemäß aus. Wenn im Felde 8 Agglutination eingetreten ist, 45 wird die Probe als ungültig angesehen, und das Blut wird zu einem Laboratorium gesandt, das die nötigen Hilfsmittel zur Ausführung von Proben mit solchem Blut besitzt. Die Karte kann nunmehr in waagerechter Lage, bis sie ganz trocken ist, abgelegt und 50 danach aufbewahrt werden. Anstatt frischen Blutes kann man bei den Proben auch eine Salzwasseraufschlämmung von koaguliertem Blut benutzen, und ebenso kann Salzwasser statt reines Wasser zu der Lösung des auf der Karte eingetrockneten, verdünnten Serums verwendet werden. Jedoch muß man dabei beachten, daß die Salzkonzentration nicht 2% übersteigt oder wenigstens nicht in der Nähe von 3% kommt.

Die Karte kann statt vier Felder eine beliebige 55 andere Anzahl enthalten, die der Anzahl Gruppenbestimmungen entspricht, welche man auf der Karte auszuführen wünscht, und die in jedem Feld angewandten Testsera können andere als die oben angeführten sein, und zwar entsprechend der Art der gewünschten Gruppenbestimmungen. Verwendet man zum Belag andere Stoffe als Zellulosehäutchen, kann jedoch die Bestimmung in derselben Weise ausgeführt werden, aber im allgemeinen kann man nicht damit rechnen, daß man die Reaktion auf der Karte nach dem Eintrocknen ablesen kann.

Die Bezeichnung »Patient« ist im vorstehenden für diejenige Person angewandt, deren Blut in bezug auf Gruppe bestimmt werden soll, ohne Rücksicht darauf, ob die Rede von einer kranken oder einer gesunden Person ist, z. B. einer Person, welche betreffend Verwendung als Blutgeber geprüft werden soll. 5

PATENTANSPRÜCHE:

1. Zur Bestimmung von Blutgruppen verwendbare Karte, auf deren Oberfläche die den Blutgruppenbestimmungen dienenden Reaktionen auf eingerahmten Gebieten, innerhalb welcher spezifische Testsera auf den Kartenoberflächen eingetrocknet sind, ausführbar sind, dadurch gekennzeichnet, daß die Sera mit so viel Conglutinin oder Conglutininersatz verdünnt sind, daß das Verhältnis zwischen Serum einerseits und Conglutinin und Conglutininersatz andererseits oder, falls die Serummengen unwesentlich sind, zwischen den Komponenten eines Gemisches von Conglutinin und Conglutininersatz zwischen 1 : 99 und 30 : 70, vorzugsweise bei etwa 10 : 90 liegt. 15

2. Karte nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktionsstärke der angewandten Serum-Conglutinin-Mischungen oder Serum-Conglutininersatz-Mischungen durch Mischung stärker

kerer Testsera mit indifferenten oder schwächeren gruppengleichen Sera standardisiert ist.

3. Karte nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß ein Feld der Karte zusammen mit Conglutinin oder Conglutininersatz ein indifferentes Serum ohne Zusatz von spezifischem Serum enthält.

4. Hilfsmittel nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Karte in allen Feldern eine eingetrocknete Mischung von Serum (hierunter Testserum und Mischungen von Testserum mit indifferentem Serum) und Conglutinin oder Conglutininersatz in ein und demselben Mengenverhältnis enthält.

5. Hilfsmittel nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Kartenfläche ganz oder teilweise mit einem Häutchen aus regenerierter Zellulose, vorwiegend in Form eines Klebestreifens mit einem wasserbeständigen Klebemittel, belegt ist.

6. Hilfsmittel nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß in den eingetrockneten Tröpfchen von Serum und Conglutinin oder Conglutininersatz eine solche Salzkonzentration vorhanden ist, daß die Salzkonzentration in der Reaktionsmischung bei der Wiederlösung im Bereich von 1 bis 3 %, vorzugsweise bei etwa 2 %, liegt.

Hierzu 2 Blatt Zeichnungen

Fig. 1

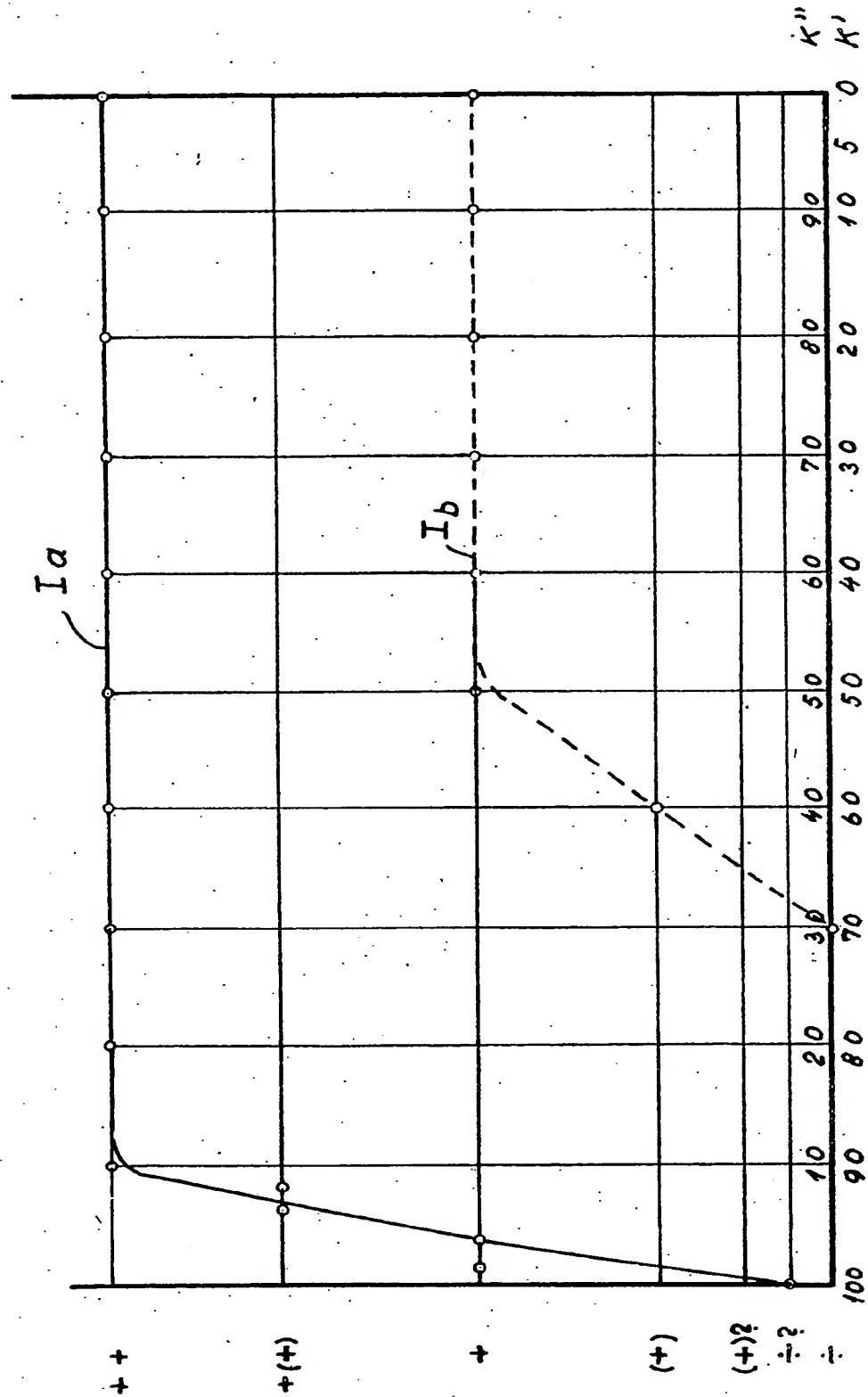


Fig. 2

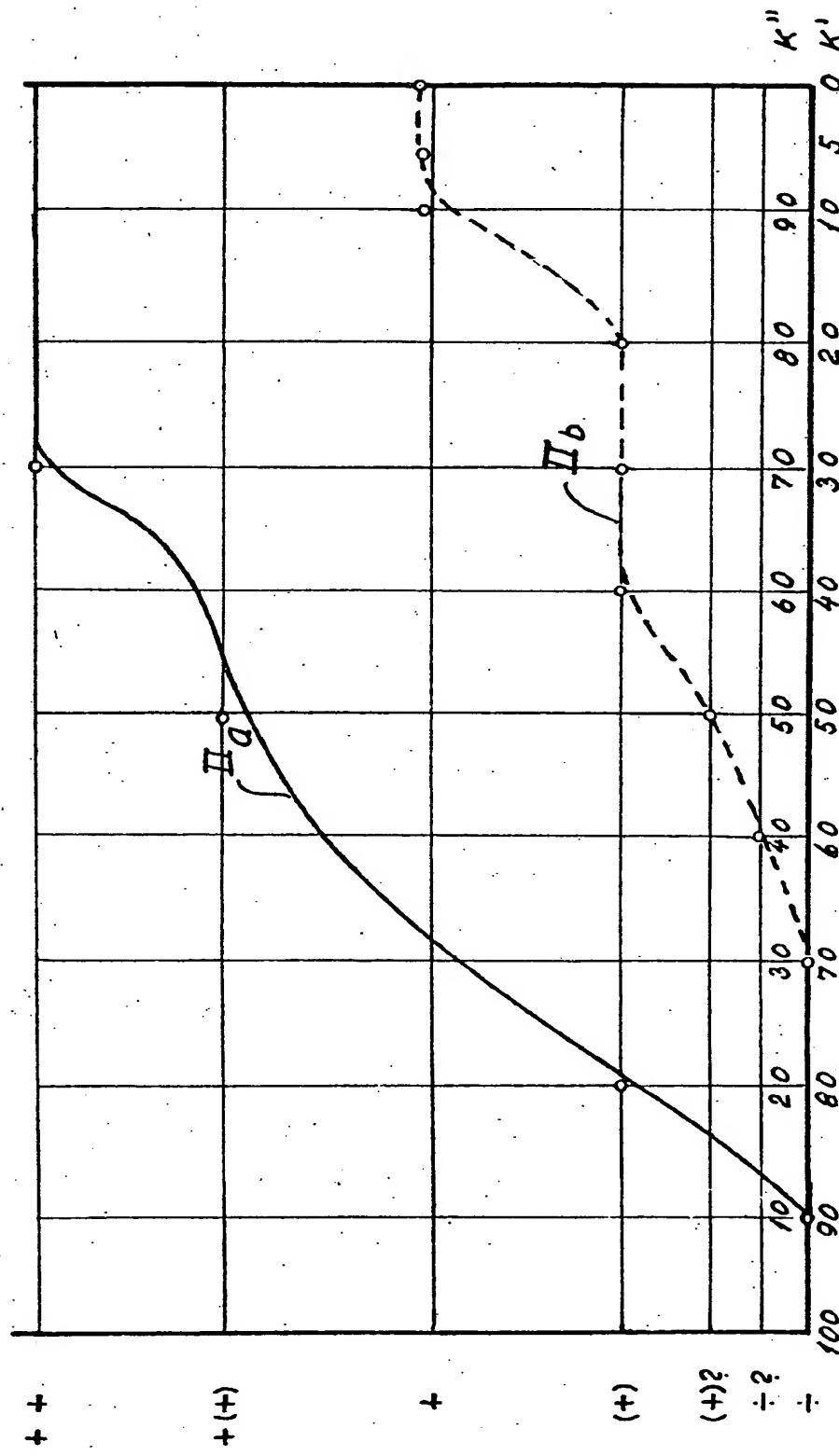


Fig. 3

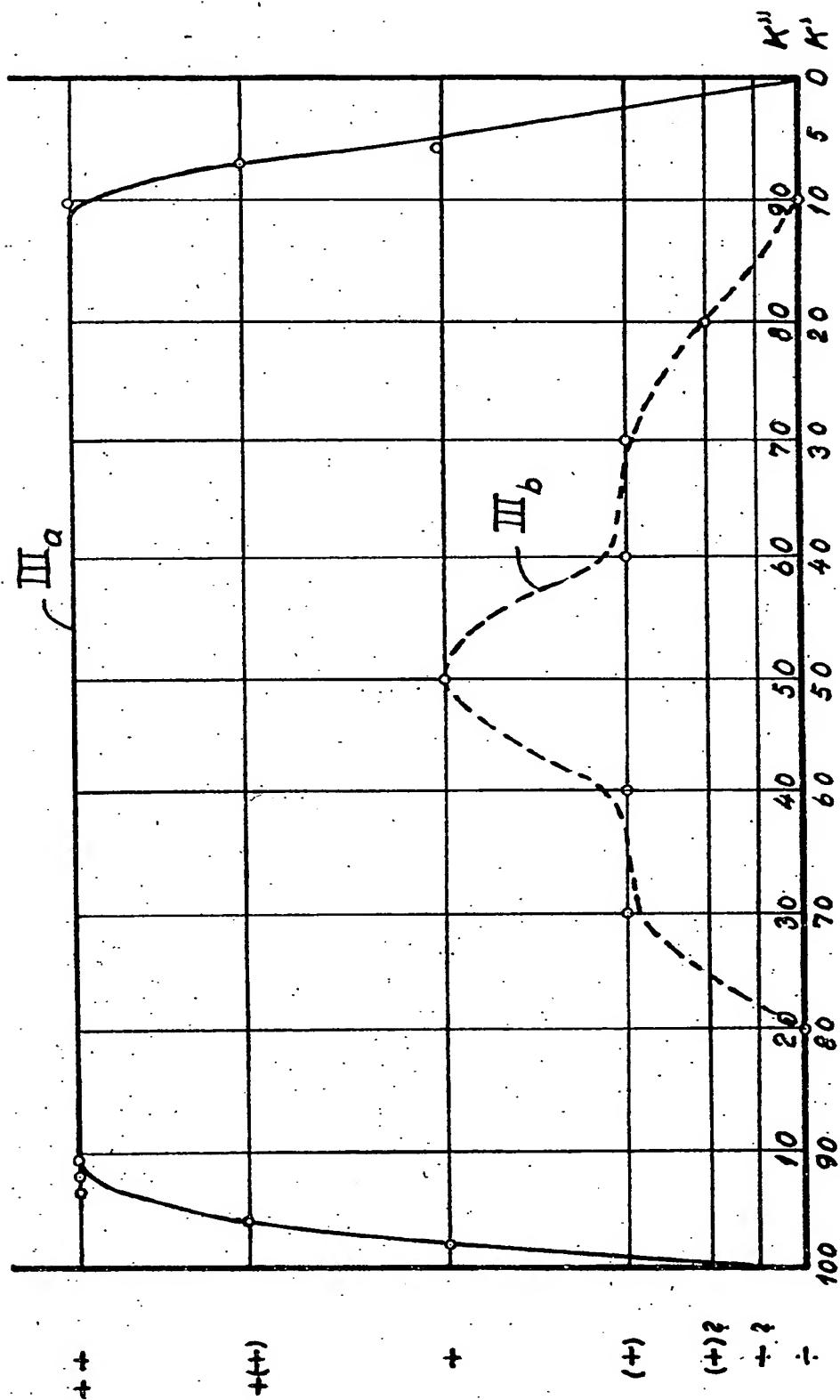
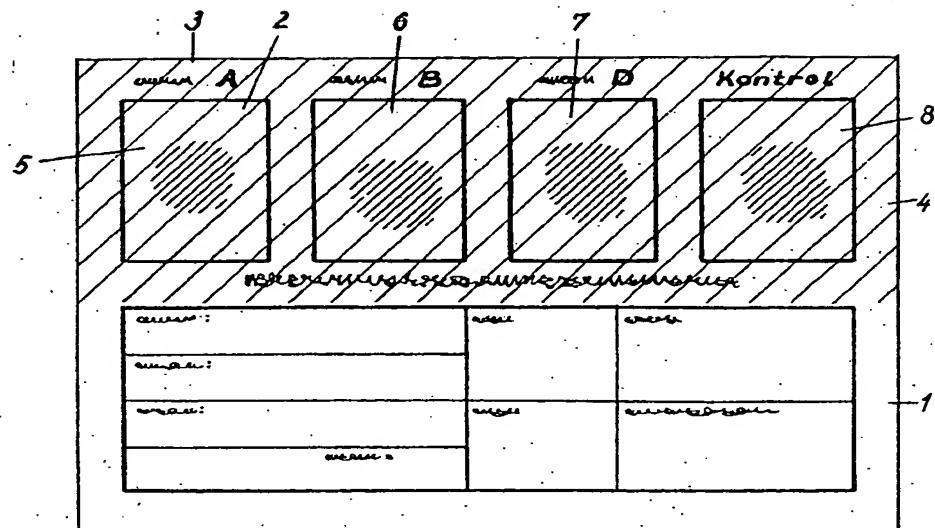


Fig. 4



THIS PAGE LEFT BLANK